



Original Article

The Effect of Anaerobic *Granulobacter* Microorganisms on the Process of Biogas Production from Urban Organic Waste (A Bench- Scale Study)

Leila Yousefi^{1*}, Zahra Sadeghi², Sima Askari²

1- Department of Chemistry, Isl.C., Islamic Azad University, Islamshahr, Iran.

2- Department of Chemical Engineering, SR.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran.

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Keywords:

Biogas,
Granulobacter,
Anaerobic Digestion,
Methane

Received:
November 30, 2025

Revised:
March 18, 2026

Accepted:
March 18, 2026

* Corresponding author:
leila.yousefi@iaau.ac.ir

Introduction

Organic waste is a significant problem in most countries around the world, including Iran, and every year large sums of public money expenditure are spent on its transportation, burial, and processing to mitigate in order to prevent environmental pollution and health issues risks. There are various methods for collecting and managing the management of organic waste, including waste incineration, as well as aerobic and anaerobic digestion incinerators, aerobic and anaerobic digesters. Biogas is one of the most promising bioenergy options among for non-fossil fuel-based energies, and it is noteworthy that a wide range of many biodegradable organic wastes, such as plant and animal matter organic matter, can serve as substrates for biogas production to urban waste water and some industrial waters, can be used as substrates for biogas production, provided that the necessary chemical and physical conditions for the growth of methane-producing bacteria archaea are established provided. The efficiency quality of the anaerobic sludge decomposition process under anaerobic conditions depends on environmental conditions and the microbial community mechanism of bacteria, so changes in operating conditions that lead to changes in the dominant bacterial species can significantly impact affect the performance of the digester. In this bench-scale study, anaerobic digestion was evaluated with different ratios amounts of feedstock feed, water, and *Granulobacter* inoculum *Granobacteria* was investigated with the aim of evaluating its potential using this type of bacteria as an bioaugmentation agent inoculant to increase the efficiency of the anaerobic digestion process on a laboratory bench scale.

Materials and Methods

The raw materials used in the experiment included urban waste (e.g., bread, orange peels, vegetables, egg cartons, fruit peels, rice, meat, eggshells, pasta, tea, and onion peels), *Granulobacter*, and sodium hydrogen carbonate (NaHCO_3). The treatments consisted of 3033.20 g household waste + 3033.20 g water + 709.30 g *Granulobacter* (T1), 3972.70 g household waste + 3972.70 g water + 400 g *Granulobacter* (T2), 2415.30 g household waste + 2415.30 g water + 209.10 g *Granulobacter* (T3), and 2000 g household waste + 2000 g water + 200 g *Granulobacter* (T4). In each treatment, the primary feed sample (urban waste) was crushed into smaller pieces (less than 1 cm) and thoroughly mixed. An equal amount of water was then added,

How to cite:

Yousefi, L., Sadeghi, Z. and Askari, S. (2025). *The Effect of Anaerobic Granulobacter Microorganisms on the Process of Biogas Production from Urban Organic Waste*. Journal of Agricultural Mechanization, 10 (4):57-70.

<https://doi.org/10.22034/jam.2026.68067.1347>



This is an open-access article under the CC BY NC license
(<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>)



followed by adding *Granulobacter* to the feed. The pH of the feed was measured using a pH meter. Then, each treatment was poured into the digester tank, and the system was initiated. At the end of the digestion process, the biogas tank was separated from the system, and the gas contents were analyzed using gas chromatography (GC). Then, following the complete discharge of the biogas, the digester door was opened, and the remaining contents were subjected to elemental analysis, similar to the initial feed, as well as physicochemical tests (including dry matter, ash, and organic matter). Changes in pH, temperature, and pressure were measured throughout the process and compared across treatments. Data were analyzed using a factorial experiment in a completely randomized design with three replications. Mean comparisons were performed using Duncan's multiple range test at a probability level of $\alpha = 5\%$ using SPSS software (version 18).

Results and Discussion

The findings revealed that the moisture content of the digested samples increased compared to that of the initial feedstock. Moreover, in all treatments except T4, the ash content of the transformed feedstock during digestion was higher than that of the digested material. The largest reduction in carbon relative to the feedstock (1.80 %) was observed in T1, while the maximum methane content (43 %) was obtained in T2. Additionally, the pH reached approximately 6.75 in T1 after 90 days. However, it reached 7.45, 7.00, and 5.10 in T2, T3, and T4 after 49, 54, and 47 days, respectively. During the anaerobic digestion period, T1 showed low temperature fluctuations, maintaining a steady temperature of around 48 °C until the end of the period. In T2, the temperature declined from 50 °C on day 5 to 37 °C at the end of the period, whereas in T3, it rose by about 10 °C from day 5 to the end of the period. Notably, T4 showed temperature fluctuations within the range of 40–45 °C. Furthermore, reactor pressure fluctuations in T1 varied between 0.12 and 0.50 bar. In T2, the pressure varied between 0.15 and 0.25 bar from day 4 to the end of the period, while in T3, it ranged from 0.20 to 0.25 bar. In T4, the pressure remained almost constant (0.15 bar) throughout the entire period.

Conclusion

Anaerobic digestion is a biological process in which the organic matter is decomposed in the absence of oxygen through the participation of various bacterial species. In this study, the anaerobic digestion process was examined using different amounts of municipal organic waste, water, and *Granulobacter*. The results demonstrated that *Granulobacter*, when used as an inoculant, is a promising bacterium for increasing the efficiency of the anaerobic digestion process on a laboratory scale.



تأثیر میکروارگانیزم بی‌هوازی گرانوباکتری بر فرایند تولید بیوگاز از پسماندهای آلی شهری (مقیاس آزمایشگاهی)

لیلا یوسفی^{۱*}، زهرا صادقی^۲، سیما عسکری^۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۲/۲۷

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۱۲/۲۷

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۹/۰۹

۱- گروه شیمی، واحد اسلامشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اسلامشهر، ایران.
۲- گروه مهندسی شیمی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

* نویسنده مسئول: E-mail: leila.yousefi@iau.ac.ir

چکیده

در این پژوهش، هضم بی‌هوازی با مقادیر مختلف پسماندهای آلی شهری، آب و گرانوباکتری با هدف بررسی تأثیر این نوع باکتری بر افزایش بهره‌وری فرایند انجام پذیرفت. تیمارها، ۳۰۳۳/۲۰ گرم پسماند خانگی + ۳۰۳۳/۲۰ گرم آب + ۷۰۹/۳۰ گرم گرانوباکتری (T1)، ۳۹۷۲/۷۰ گرم پسماند خانگی + ۳۹۷۲/۷۰ گرم آب + ۴۰۰ گرم گرانوباکتری (T2)، ۲۴۱۵/۳۰ گرم پسماند خانگی + ۲۴۱۵/۳۰ گرم آب + ۲۰۹/۱۰ گرم گرانوباکتری (T3)، ۲۰۰۰ گرم پسماند خانگی + ۲۰۰۰ گرم آب + ۲۰۰ گرم گرانوباکتری (T4) بودند. طبق نتایج، رطوبت در نمونه‌های هضم‌شده نسبت به خوراک بیشتر بود. همچنین در کلیه تیمارها غیر از T4 درصد تبدیل خاکستر خوراک در مقایسه با ماده هضم شده افزایش یافت. همچنین بیش‌ترین میزان کاهش کربن در ماده هضم شده نسبت به خوراک (۱/۸ درصد) در تیمار T1 و بیش‌ترین میزان متان (۴۳ درصد) در تیمار T2 اندازه‌گیری شد. از سوی دیگر مقدار pH در تیمار T1، بعد از ۹۰ روز به حدود ۶/۷۵ اما در تیمارهای T2، T3 و T4 به ترتیب پس از ۴۹، ۵۴ و ۴۷ روز به ۷/۴۵، ۷ و ۵/۱۰ رسید. تیمار T1 طی دوره هضم بی‌هوازی از نوسانات دمایی بسیار کمی برخوردار بود و تا انتهای دوره، دما در حدود ۴۸°C ثابت باقی ماند. در تیمار T2، دما از روز ۱۵ام تا انتهای دوره از ۵۰°C تا ۳۷ کاهش نشان داد اما در تیمار T3، دما از روز ۵ام تا انتهای دوره حدود ۱۰°C افزایش یافت. قابل توجه این‌که در تیمار T4، نوسانات دمایی در محدوده ۴۰°C تا ۴۵ باقی‌ماند. از سوی دیگر در تیمار T1، تغییرات فشار مخزن در محدوده ۰/۱۲ تا ۰/۵۰ بار اما در تیمار T2 از روز ۱۴ام تا انتهای دوره، در محدوده ۰/۱۵ تا ۰/۲۵ بار و در تیمار T3 در محدوده ۰/۲۰ تا ۰/۲۵ بار اندازه‌گیری شد. در تیمار T4، مقدار فشار در کل دوره تقریباً ثابت (۰/۱۵ بار) بود.

کلمات کلیدی: بیوگاز، گرانوباکتری، هضم بی‌هوازی، متان.

۱- مقدمه

کنترل دما، pH، و نحوه خوراک‌دهی به راکتور در بازدهی تولید بیوگاز و ترکیب درصد آن نقش به‌سزایی دارد. هضم بی‌هوازی یکی از قدیمی‌ترین و پرکاربردترین فرایندهای تثبیت لجن فاضلاب در تصفیه‌خانه‌های با دبی بیش از ۲۰۰۰۰ متر مکعب در روز است. این فرایند، مواد جامد آلی در لجن را در غیاب اکسیژن به محصولات نهایی مانند متان، دی‌اکسید کربن و مواد بی‌ضرر تبدیل می‌کند. کاهش کلی مقدار مواد جامد و نابودی پاتوژن‌ها نیز در فرایند انجام می‌گیرد (Mehrdadi et al., 2004; Zamiraei et al., 2013).

هضم بی‌هوازی شامل سه فاز کلی هیدرولیز، اسیدسازی، متان‌سازی می‌باشد. در فاز هیدرولیز ترکیبات پیچیده‌ای مانند کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها و لیپیدها به شکل حل‌شدنی تبدیل و به منومرهای ساده هیدرولیز می‌شوند. هیدرولیز، محدودکننده سرعت در فاز اسیدسازی است. در فاز اسیدسازی، باکتری‌های اسید ساز، محصولات فاز اولیه را به اسیدهای آلی با زنجیره کوتاه مانند استیک اسید، پروپیونیک اسید و لاکتیک اسید و هیدروژن و دی‌اکسید کربن تبدیل می‌کنند. اسید سازها اغلب باکتری‌های اختیاری هستند و در برابر تغییرات pH و دما نسبتاً مقاوم هستند. باکتری‌های اختیاری می‌توانند از اکسیژن محلول در متابولیسم استفاده کنند. اسید سازها زمان تقسیمی در حدود چند ساعت دارند و می‌توانند در شرایط مختلف محیطی عمل کنند. از سوی دیگر در فاز متان‌سازی باکتری‌های متان‌ساز اسیدهای فرار را به متان تبدیل می‌کنند. این فاز آخرین مرحله در تجزیه مواد آلی به شکل بی‌هوازی می‌باشد. قابل توجه این‌که باکتری‌های تشکیل دهنده اسید به همراه باکتری‌های تشکیل‌دهنده متان بیشترین نقش را در فرایند هضم بی‌هوازی لجن ایفا می‌کنند. این میکروارگانسیم‌ها شامل باکتری‌های بی‌هوازی اختیاری (که ترکیبات آلی محلول و ساده را تخمیر می‌کنند) و باکتری‌های بی‌هوازی مطلق (که کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌ها را تجزیه می‌کنند) می‌باشند. کیفیت فرایند تجزیه لجن در شرایط بی‌هوازی به شرایط محیطی و سازوکار باکتری‌ها بستگی دارد لذا تغییر در شرایط بهره‌برداری که منجر به تغییر گونه‌های غالب باکتریایی می‌شود، عملکرد هاضم را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Mehrdadi et al., 2004; Zamiraei et al., 2013).

طبق بررسی‌های به‌عمل‌آمده، پژوهش‌های مختلفی در رابطه با تأثیر دما، نسبت‌های مختلف پسماندها و جمعیت میکروارگانسیم‌ها بر تولید و کیفیت هضم مواد جامد انجام شده است. Chen et al. (2016) در پژوهشی تأثیر دما و نسبت کود به پسماند مواد غذایی را بر جمعیت میکروارگانسیم‌های بی‌هوازی، تولید بیوگاز و کیفیت هضم مواد جامد مورد بررسی قرار دادند. تجزیه و تحلیل‌های مولکولی نشان داد که دما و نسبت کود به پسماند مواد غذایی بر میزان جمعیت باکتریایی تأثیرگذار است. طبق نتایج، بهره‌وری تولید بیوگاز با افزایش نسبت کود به پسماند مواد غذایی افزایش یافت. از

پسماندهای آلی معضل اکثر کشورهای جهان از جمله ایران محسوب می‌شوند و هر ساله مبالغ زیادی از بودجه عمومی، برای حمل و نقل، دفن و فرآوری آن‌ها در راستای جلوگیری از آلودگی محیط زیست و مسایل بهداشتی پرداخت می‌شود. روش‌های مختلفی به منظور جمع‌آوری و مدیریت پسماندهای آلی وجود دارد که از میان آنها می‌توان به پسماندسوزها، هاضم‌های هوازی و بی‌هوازی اشاره کرد. البته در اکثر کشورها، سیستم رایج، معمولاً دفن در زمین (لندفیل) است و به ندرت از فرآیندهای دیگر استفاده می‌شود و نتیجه‌ی جمع‌آوری و دفن غیر مهندسی این حجم از مواد زاید آلی، تولید میلیون‌ها متر مکعب متان و دی‌اکسید کربن به همراه شیرابه‌های بسیار خطرناک است که باعث آلودگی‌های زیست محیطی می‌شوند (Chen et al., 2016).

در سال‌های اخیر محدودیت منابع و ذخایر فسیلی از یک سو و آلودگی و مشکلات زیست محیطی ناشی از مصرف بی‌رویه این سوخت‌ها از سوی دیگر، موجب گردیده که به منابع دیگر تولید انرژی توجه بیشتری شود. مصرف روزافزون انرژی حاصل از سوخت‌های فسیلی به واسطه انتشار آلاینده‌های حاصل از احتراق سوخت‌های فسیلی و افزایش دی‌اکسید کربن در اتمسفر و پیامدهای ناشی از آن جهان را با تغییرات تهدیدآمیزی روبرو کرده است. از دیگر سو محدودیت منابع فسیلی و غیرقابل تجدید بودن این منابع، پیش‌بینی افزایش قیمت‌ها را موجب گردیده است تا آن‌جا که باعث شده سیاست‌گذاران و برنامه‌ریزان بخش انرژی، انجام مطالعات ساختاری، تغییر حامل‌های انرژی و حرکت به سوی سوخت‌های پاک را در رؤس برنامه‌های کاری خود قرار دهند و یکی از این گزینه‌ها، استفاده از انرژی حاصل از منابع زیست توده است. از طرف دیگر، انتقال گاز از تاسیسات بالادستی مستلزم احداث واحدهای تقویت فشار گاز در مسیر انتقال است که جهت جبران افت فشار، اجتناب‌ناپذیر است. با در نظر گرفتن هزینه‌های بالا جهت احداث خطوط طولی لوله انتقال گاز و واحدهای تقویت فشار و همچنین نیاز به پالایش‌های وسیع و ویژه جهت پیشگیری و کنترل وقوع حوادث غیر مترقبه در مسیر خط لوله، بهتر است استفاده از یک سوخت پاک، ارزان قیمت و قابل تولید در محل، مورد بررسی و ارزیابی قرار گیرد. بیوگاز یکی از امیدوارکننده‌ترین گزینه‌های انرژی زیستی برای انرژی‌های مبتنی بر سوخت‌های غیرفسیلی است و نکته قابل توجه این‌که بسیاری از پسماندهای آلی قابل تجزیه بیولوژیکی مانند مواد آلی گیاهی و حیوانی تا فاضلاب‌های شهری و برخی آب‌های صنعتی می‌توانند به‌عنوان بسترهایی برای تولید بیوگاز مورد استفاده قرار گیرند مشروط بر این‌که شرایط شیمیایی و فیزیکی لازم برای رشد باکتری‌های متان‌زا فراهم شده باشد (Zaeni et al., 2019).

۳۰ گرم بر لیتر کاه گندم، ۷/۳۹ لیتر برای ۴۰ گرم بر لیتر و ۸/۲۲ لیتر برای ۴۵ گرم بر لیتر بود. درجه تجزیه زیستی نیز به ترتیب ۶۸/۹٪، ۷۴٪ و ۷۲٪ محاسبه شد. همچنین غلظت بیومتان در بیوگاز ۶۰٪ به دست آمد (Kabaivanova et al., 2022).

قابل توجه این که در همین راستا به پژوهش‌های سایر محققین نیز می‌توان اشاره نمود (Zaeni et al., Sugiarto et al., 2021; Arifan et al., 2021).

با توجه به موارد مطرح شده، در این پژوهش هضم بی‌هوازی با مقادیر مختلف خوراک، آب و گرانباکتری با هدف استفاده از این نوع باکتری به‌عنوان تلقیح کننده، در راستای افزایش بهره‌وری فرایند هضم بی‌هوازی در مقیاس آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

مواد اولیه جهت انجام آزمایش شامل پسماندهای شهری (شامل نان، پوست پرتقال، سبزی، کارتن تخم مرغ، پوست انواع میوه، برنج، گوشت، پوست تخم مرغ، ماکارونی، چای و پوست پیاز)، گرانباکتری (از پالایشگاه غلات زر / ایران) و سدیم هیدروژن کربنات (NaHCO_3) (از شرکت مرک / آلمان) تهیه شدند. در ضمن تیمارهای تحقیق شامل: ۱- ۳۰۳۳/۲ گرم پسماند خانگی + ۳۰۳۳/۲ گرم آب + ۷۰۹/۳ گرم گرانباکتری (T1)، ۲- ۳۹۷۲/۷ گرم پسماند خانگی + ۳۹۷۲/۷ گرم آب + ۴۰۰ گرم گرانباکتری (T2)، ۳- ۲۴۱۵/۳ گرم پسماند خانگی + ۲۴۱۵/۳ گرم آب + ۲۰۹/۱ گرم گرانباکتری (T3)، ۴- ۲۰۰۰ گرم پسماند خانگی + ۲۰۰۰ گرم آب + ۲۰۰ گرم گرانباکتری (T4) بودند.

۲-۲- ویژگی‌های مواد و روش‌ها

در هریک از تیمارها، نمونه خوراک اولیه (پسماند شهری) به قطعات کمتر از ۱ سانتی‌متر خرد و به خوبی مخلوط شدند (شکل ۱)، سپس به همان مقدار، آب اضافه گردید. در ادامه گرانباکتری به خوراک اضافه و با pH متر، pH خوراک اندازه گرفته شد. پس از آماده‌سازی، هریک از تیمارها درون مخزن هاضم ریخته شدند و سیستم راه اندازی گردید. مجموعه دستگاهی هاضم بی‌هوازی در مقیاس آزمایشگاهی در شکل ۱ نشان داده شده است. همان‌طور که در شکل ۱ مشهود است، راکتور هاضم بی‌هوازی، دو جداره و مجهز به عایق پشم شیشه می‌باشد. به منظور کنترل دمای محیط فرایند در شرایط مزوفیلیک (حدود ۳۷ درجه سلسیوس)، پمپ آب دستگاه که به حمام بن ماری (دمای این حمام در محدوده صفر تا حدود دمای جوش آب بود) و هاضم متصل بود، آب را از حمام به ژاکت

سوی دیگر طبق تجزیه و تحلیل‌های آماری، میکروپها، پیکربندی جامعه خود را تحت شرایط مختلف تغییر دادند تا عملکرد هاضم و در نتیجه تولید بیوگاز را افزایش دهند.

Yono et al. (2018) در پژوهشی تولید بیوگاز از پسماندهای صنعتی کاساوا به روش بی‌هوازی را مورد بررسی قرار دادند. هدف از این تحقیق، مطالعه تاثیر تخمیر یک مرحله‌ای و تخمیر دو مرحله‌ای بر تولید بیوگاز، مطالعه اثر بافر Na_2CO_3 بر تولید بیوگاز و بررسی اثر غلظت باکتری‌های متانوژن بر تولید بیوگاز از پساب نشاسته کاساوا بود. طبق نتایج، بیشترین تولید بیوگاز در غلظت ۲۰٪ باکتری متانوژن به دست آمد که معادل ۲۴۵۸ میلی‌لیتر بود. در غلظت ۸٪ و ۱۵٪، تولید بیوگاز معادل ۲۱۰۵ میلی‌لیتر و ۲۱۱۷ میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد.

Gao et al. (2020) تاثیر افزودن مخمر بر عملکرد تولید بیوگاز را به بستر هاضم پس از کاهش تولید بیوگاز، مورد بررسی قرار دادند. طبق نتایج، تولید روزانه بیوگاز با افزودن ۲٪ مخمر فعال در روز ۱۲ و ۳۷ام از هضم بی‌هوازی، به ترتیب ۵۲۰ و ۵۵۰ میلی‌لیتر افزایش یافت و تولید گاز نسبتاً پایدار بود. اما در گروه شاهد (بدون مخمر)، افزایش تولید گاز به طور معنی‌داری کاهش یافت. نتایج تجزیه و تحلیل شاخص‌هایی مانند اسیدهای آلی فرار، قلیابیت و اسید پروپیونیک نشان داد که پایداری سیستم هضم بی‌هوازی گروه مخمر بالاتر است. در پژوهشی دیگر اثرات دما و نسبت‌های مختلف مخلوط کود و ضایعات غذایی بر تولید بیوگاز و ساختار جامعه میکروبی مورد بررسی قرار گرفت. طبق نتایج، افزایش میزان ضایعات میوه و پسماند رستوران در مخلوط خوراک، به طور قابل توجهی بهره‌وری سیستم‌ها را افزایش داد (افزایش ۱۶٪ در سیستم‌های مزوفیل و ۴۱٪ در سیستم‌های ترموفیل).

همچنین افزایش دمای هاضم و افزودن ضایعات غذایی توانست تأثیر منفی نسبت‌های پایین C:N بر هضم بی‌هوازی را کاهش دهد (Murillo-Roos et al., 2022).

در پژوهشی دیگر، کاه گندم و ساقه ذرت بدون هیچ‌گونه پیش‌فرآوری، به‌عنوان یک منبع تجدیدپذیر جمع‌آوری شدند تا در یک هاضم در مقیاس آزمایشگاهی برای تولید بیوگاز/بیومتان مورد استفاده قرار گیرند. در ادامه تاثیر پارامترهای فرآیند شامل دما، pH، کل جامدات، جامدات فرار، غلظت اسیدهای چرب فرار و غلظت سلولز بر حجم بیوگاز تولیدی مورد بررسی قرار گرفت. در ارتباط با تاثیر بارگذاری آلی، نتایج نشان داد که فرآیند در دمای ۵۵ درجه سلسیوس، بار بستر بالاتری را تا ۴۵ گرم بر لیتر تحمل می‌کند. اما افزایش بیشتر بار بستر، احتمالاً به دلیل مهار یا محدودیت‌های انتقال جرم، منجر به افزایش تولید بیوگاز نشد. از سوی دیگر پس از یک فرآیند هضم بی‌هوازی ۱۲ روزه، حجم جمعی بیوگاز، ۴/۷۸ لیتر (برای ۱ لیتر از حجم کار بیوراکتور) در بارگیری بستر به میزان

جامد آلی و معدنی است. دستگاه CHNSO که از روش آنالیز احتراقی به همراه کروماتوگرافی گازی استفاده می‌کند، دقیق‌ترین روش برای تعیین غلظت این عناصر است. در پژوهش حاضر آنالیز عنصری با آنالایزر Elementary Trading Shanghai Co., Ltd. China انجام پذیرفت (Volpe et al., 2018).



شکل ۱ - دستگاه هاضم بی‌هوازی در مقیاس آزمایشگاهی (بالا) و پسماند شهری خرد شده (پایین)

Fig 1. Bench-scale anaerobic digester (Top) and shredded urban waste (Bottom)

۲-۲-۳- آزمون‌های فیزیکو شیمیایی

۲-۲-۳-۱- درصد ماده خشک و رطوبت

برای اندازه‌گیری درصد خشک، نمونه‌ها درون آونی با دمای $105 \pm 1^\circ\text{C}$ به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند. وزن نمونه‌ها قبل و بعد از قرار دادن درون آون با استفاده از یک ترازوی دیجیتال (Sartorius, model PT210, Germany) و با دقت ± 0.1 گرم اندازه‌گیری شد. در ادامه درصد خشک نمونه‌ها با استفاده از رابطه ۱ محاسبه گردید (Gao et al., 2020).

$$DM = \frac{M_d}{M_w} \times 100 \quad (1)$$

که در آن: DM - درصد خشک نمونه‌ها، M_w - وزن اولیه نمونه (g) و M_d - وزن نهایی نمونه پس از خشک‌شدن (g) هستند. در ادامه برای اندازه‌گیری درصد رطوبت، از رابطه ۲ استفاده شد.

دور هاضم انتقال داده و سپس به حمام برمی‌گرداند تا دما ثابت بماند. از سوی دیگر دمای محیط فرایند در هاضم بی‌هوازی توسط یک ترموکوپل تعبیه شده در داخل هاضم اندازه‌گیری و روی صفحه نمایشگر متصل به آن نمایش و بر اساس این دما، دمای حمام بن ماری تنظیم می‌شود. این عمل تا زمانی ادامه یافت که فشار بیوگاز تولیدی ثابت شد (در تیمارها در محدوده ۳۰ تا ۴۰ روز طول کشید).

همچنین به صورت روزانه، pH محیط فرایند با دستگاه pH متر اندازه‌گیری می‌شد. نمونه‌گیری از محیط فرایند، از طریق یک شیر یکطرفه که بر روی جدار هاضم و در بخش پایین آن قرار داشت، انجام می‌شد. حال اگر هر سه مرحله از فرایند هضم بی‌هوازی به صورت بهینه و متوازن انجام می‌شد، معمولاً تغییرات pH در محدوده ۷ تا ۸ قرار داشت و نوسانات جزئی طی مراحل فرایند کنترل و تصحیح می‌گردید. اما در برخی موارد به دلیل کاهش شدید pH محیط هضم، مخصوصاً در مرحله اسیدزائی، با تزریق محلول سود از طریق شیر بالای هاضم، کنترل pH محیط انجام می‌پذیرفت. در ادامه در پایان فرایند، مخزن بیوگاز از سیستم جدا گردید و با استفاده از دستگاه GC محتویات گاز آن آنالیز شد. همچنین پس از تخلیه کامل بیوگاز، درب هاضم باز و محتویات داخل مخزن هضم، مشابه خوراک اولیه آنالیز گردید. قابل توجه این‌که تغییرات pH، حجم و فشار در طول دوره فرایند اندازه‌گیری و با یکدیگر مقایسه شدند.

۲-۲-۱- کروماتوگرافی گاز

درصد گاز متان استحصال شده، با تزریق ۲۵۰ میکرو لیتر گاز به دستگاه گاز کروماتوگرافی مدل SP-3400 (ساخت کشور چین)، که دارای ستون TCD بود، تعیین گردید. دمای فیلمان، ستون و دتکتور به ترتیب روی ۱۱۰، ۵۰ و ۱۷۰ درجه سلسیوس تنظیم شدند. گاز استحصال شده از هریک از تیمارها با سرنگ به قسمت انژکتور دستگاه و در قسمت سپتوم تزریق می‌شد و با توجه به سطح زیر منحنی و با استفاده از نرم افزار PEAK درصد هریک از گازها تعیین می‌گردید. از نیتروژن که گازی خنثی است با شدت جریان 20 ml/min به عنوان گاز حامل استفاده شد و دمای محفظه تزریق (انژکتور) روی ۱۰۰ درجه سلسیوس تنظیم گردید. قبل از انجام آزمایش، به منظور کالیبره کردن دستگاه برای گاز متان، یک میلی‌لیتر گاز متان با خلوص ۹۹/۹ درصد به دستگاه تزریق و نقطه ماندگاری و سطح زیر منحنی و به دنبال آن درصد حجمی نمونه تعیین شد.

۲-۲-۲- آنالیز عنصری

آنالیز CHNSO یک آنالیز عنصری برای تعیین دقیق غلظت عناصر کربن، گوگرد، هیدروژن، نیتروژن و اکسیژن در نمونه‌های

که در آن: DM - درصد خشک نمونه‌ها، M_w - وزن اولیه نمونه (g) و M_{ash} - وزن خاکستر (g) می‌باشند.

۲-۲-۴- تجزیه و تحلیل آماری

به منظور تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از پژوهش، از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار استفاده شد و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن، در سطح احتمال $\alpha = 5\%$ و توسط نرم افزار SPSS نسخه ۱۸ انجام پذیرفت.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- نتایج آزمون‌های فیزیکی شیمیایی

نتایج مقایسه میانگین داده‌های حاصل از تاثیر تیمارهای مختلف بر خواص فیزیکی-شیمیایی خوراک و ماده هضم‌شده در جدول ۱ نشان داده شده است.

$$HD = 100 - DM \quad (۲)$$

که در آن: DM - درصد خشک نمونه‌ها و HD - درصد رطوبت نمونه‌ها می‌باشند.

۲-۳-۲-۲- خاکستر

به منظور اندازه‌گیری خاکستر، ابتدا نمونه‌ها توزین و سپس به مدت ۴ ساعت در کوره با دمای ۵۵۰ درجه سلسیوس قرار داده شدند. در ادامه درصد خاکستر نمونه‌ها با استفاده از رابطه ۳ محاسبه شد (Gao et al., 2020).

$$Ash = \frac{M_{ash}}{M_w} \times 100 \quad (۳)$$

که در آن: M_w - وزن اولیه نمونه (g) و M_{ash} - وزن خاکستر (g) هستند.

۲-۳-۲-۲- ماده آلی

به منظور اندازه‌گیری ماده آلی از رابطه ۴ استفاده شد (Rongping et al., 2010).

$$OM = \frac{DM - M_{ash}}{M_w} \times 100 \quad (۴)$$

جدول ۱- مقایسه میانگین داده‌های حاصل از تاثیر تیمارهای مختلف بر خواص فیزیکی-شیمیایی خوراک و ماده هضم‌شده

Table 1. Mean comparison of the effect of different treatments on the physicochemical properties of feed and digestate

Treatment	Moisture (%)		Ash (%)		Organic matter (%)		Dry matter (%)	
	Before digestion	After digestion	Before digestion	After digestion	Before digestion	After digestion	Before digestion	After digestion
T1	89.65 ^e	91.56 ^{bc}	1.53 ^b	1.38 ^{cd}	4.82 ^f	3.06 ^f	10.35 ^e	8.43 ^d
T2	93.75 ^{ab}	95.21 ^a	1.35 ^d	1.00 ^f	8.89 ^{cd}	6.79 ^e	6.25 ^e	4.79 ^f
T3	89.10 ^e	91.92 ^{bc}	1.50 ^b	1.44 ^e	9.40 ^c	7.64 ^{de}	10.90 ^e	8.08 ^d
T4	81.06 ^d	83.57 ^d	1.10 ^e	1.58 ^a	17.84 ^a	14.85 ^b	18.94 ^a	16.42 ^b

حروف مختلف، تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها را نمایش می‌دهند ($p \leq 0.05$)

Different letters indicate significant difference between means at $P \leq 0.05$

فعالیت آنزیم‌های سلولی، هیدراسیون بیوپلیمرها و تسهیل شکست سلول‌ها می‌شود. با این حال، باید مقدار مناسب آب را در نظر گرفت، زیرا کمبود رطوبت و افزایش غلظت مواد جامد باعث افزایش چسبندگی و انباشتگی اسیدهای فعال شده و سبب تأخیر در فرآیند تخمیر می‌شود. همچنین، اگر مقدار رطوبت زیاد باشد، محلول لایه‌لایه شده و در صورت عدم همزمانی محلول، باعث کاهش تولید بیوگاز خواهد شد. همچنین محتوای زیاد آب باعث حل شدن مواد آلی تجزیه پذیر می‌گردد و بدین گونه بر عملکرد فرایند اثر خواهد گذاشت (Suryawanshi et al., 2010).

مطابق جدول ۱، رطوبت در نمونه‌های هضم‌شده نسبت به خوراک افزایش یافت یعنی بخشی از خوراک طی فرآیند هضم بی‌هوازی به آب تبدیل شده است ($p \leq 0.05$). به عبارت دیگر تولید آب طی فرآیند نشان‌دهنده فعالیت باکتری‌ها و در نتیجه تولید متان است (Wellinger et al., 2013). مطابق جدول ۱، غیر از

یکی از مهم‌ترین مراحل در راه‌اندازی سیستم بیوگاز، بارگذاری صحیح آن است. یعنی تعیین دقیق مقدار مواد آلی که بایستی توسط حجم معینی از هاضم بی‌هوازی، در مدت زمانی معین، فرآوری شود. یکی از خطرات احتمالی افزایش مقدار بارگذاری آلی این است که باکتری‌های آبکافت‌کننده و اسیدساز به سرعت محصولات میانی تولید می‌کنند. از آن‌جا که زمان تکثیر باکتری‌های متان‌ساز کوتاه‌تر است این باکتری‌ها نمی‌توانند اسیدهای چرب را با نرخی برابر با نرخ تولید آن‌ها مصرف کنند، بنابراین تجمع اسیدهای چرب باعث کاهش pH و ممانعت از فعالیت باکتری‌های متان‌ساز شده و در نهایت منجر به توقف سیستم می‌گردد (Khalid et al., 2011).

برای جذب مواد آلی توسط باکتری‌ها، بهتر است مواد به صورت محلول تهیه شوند زیرا آب یکی از مواد مهم در تغذیه میکروارگانیسم‌ها محسوب می‌شود و باعث حرکت باکتری‌ها،

نکته قابل توجه این که در تمامی ترکیبات آلی خوراک، شامل قندها، چربی‌ها و پروتئین‌ها عنصر اتم هیدروژن وجود دارد. کاهش میزان آن پس از هضم نسبت به قبل از هضم نشان از انجام صحیح مراحل فرایند هضم بی‌هوازی شامل اولین مرحله هضم بی‌هوازی یعنی هیدرولیز و به دنبال آن فرایند اسیدزایی (اسیدهای آمینه، اسید استیک و متانول) و در انتها متانزایی است که البته بخشی از این هیدروژن صرف تولید متان در بیوگاز می‌شود. پس عدم کاهش آن نسبت به خوراک می‌تواند نشان از تشکیل و حضور ممانعت‌کننده‌ها (مثل آمونیاک) و اختلال در عواملی مثل pH که سبب غیر فعال شدن باکتری‌های متانزا می‌شوند، باشد.

جدول ۲- مقایسه میانگین داده‌های حاصل از تأثیر تیمارهای

مختلف بر آنالیز عنصری خوراک و ماده هضم‌شده

Table 2. Mean comparison of the effect of different treatments on elemental analysis of feed and digested matter

Treatment	C (%)		H (%)	
	Before digestion	After digestion	Before digestion	After digestion
T1	44.58 ^b	42.78 ^c	4.82 ^b	4.61 ^c
T2	42.27 ^{cd}	42.06 ^d	4.50 ^d	4.23 ^c
T3	42.65 ^c	41.95 ^d	4.81 ^b	4.44 ^d
T4	45.97 ^a	45.87 ^a	5.91 ^a	6.00 ^a

حروف مختلف، تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها را نمایش می‌دهند ($P \leq 0.05$)
Different letters indicate significant difference between means at $p \leq 0.05$

در آخرین مرحله از فرایند تولید بیوگاز، باکتری‌های متان‌ساز، گاز متان تولید می‌نمایند. با فعالیت باکتری‌های استوکلاستیک و حذف گروه کربوکسیل از استات، حدود ۶۶٪ از گاز متان در این مرحله به دست می‌آید. ۳۴٪ دیگر از گاز متان تولید شده ناشی از واکنش کاهش کربن دی‌اکسید توسط هیدروژن می‌باشد که در آن باکتری‌های مصرف‌کننده هیدروژن نقش کاتالیزور را ایفا می‌نمایند (Nayono, 2014).

شکل ۲ ترکیب نسبی بیوگاز تولیدشده در این پژوهش را نشان می‌دهد. طبق نتایج، بیش‌ترین میزان متان تولید شده در تیمار T2 به میزان (۴۳٪) اندازه‌گیری شد. از سوی دیگر در تیمار T1 به ترتیب ۳۷/۸۶٪ و ۲۵/۱۳٪ از بیوگاز تولیدی شامل دی‌اکسید کربن و مونواکسید کربن بودند. قابل توجه این‌که بخش عمده‌ای از بیوگاز تولید شده در تیمارهای T3 و T4 نیز حاوی مونواکسید کربن و دی‌اکسید کربن اما فاقد متان بودند. میزان ترکیب نسبی بیوگاز تولیدشده علاوه بر ترکیب نسبی خوراک شامل مواد (پسماندهای) آلی، غلظت گرانوباکتری‌های اضافه شده و ترکیباتی نظیر کربن، نیتروژن، گوگرد، هیدروژن و اکسیژن، متاثر از پارامترهای عملیاتی مثل pH، دما و فشار است.

مطابق نتایج ارائه شده در جدول ۳ مربوط به تیمار T2، دما و pH در روز اول به ترتیب ۳۸ درجه سلسیوس و ۸ اندازه‌گیری

T4، نمونه‌های هضم‌شده از میزان خاکستر کمتری نسبت به نمونه‌های خوراک برخوردار بودند ($p \leq 0.05$). بخش غیرآلی که به عنوان خاکستر شناخته می‌شود، ممکن است شامل ترکیباتی باشد که به طور مثبت بر فرایندهای بیوشیمیایی تأثیرگذار باشند و آن‌ها را تسهیل یا تسریع کنند. البته برعکس نیز امکان‌پذیر است یعنی خاکستر در فرایند هضم، به عنوان مانع و بازدارنده عمل کند. برای مثال، در فرایند هضم، نیتروژن غذای میکروارگانیزم‌ها است، اما تولید آمونیاک ممکن است باعث بازدارندگی تولید متان در بیوگاز شود (Yousefi, 2019).

همان‌گونه که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، در نمونه‌های هضم‌شده، مقدار ماده آلی کمتری در مقایسه با خوراک مشاهده شد ($p \leq 0.05$). از سوی دیگر در نمونه‌های خوراک و هضم‌شده، نمونه‌های T1 و T4 به ترتیب از کمترین و بیشترین مواد آلی برخوردار بودند که علت آن را می‌توان به مقادیر باکتری نسبت داد. فرایند هضم بی‌هوازی پسماندهای آلی، برای تولید بیوگاز نیازمند تعداد کثیری واکنش‌های متابولیکی پیچیده است و وجود باکتری با مقادیر کافی به چهار مرحله اصلی تولید بیوگاز کمک می‌کند. طبق جدول ۱ نمونه‌های هضم‌شده در مقایسه با نمونه‌های خوراک از مقدار ماده خشک کمتری برخوردار بودند ($p \leq 0.05$). حال از آن‌جا که درصد تبدیل بخش خشک خوراک در مقایسه با ماده هضم شده بیانگر میزان پیشرفت فرایند هضم بی‌هوازی است لذا علت نتیجه حاصل را می‌توان به انجام شدن فرایند هضم نسبت داد (Yousefi and Bahri, 2021).

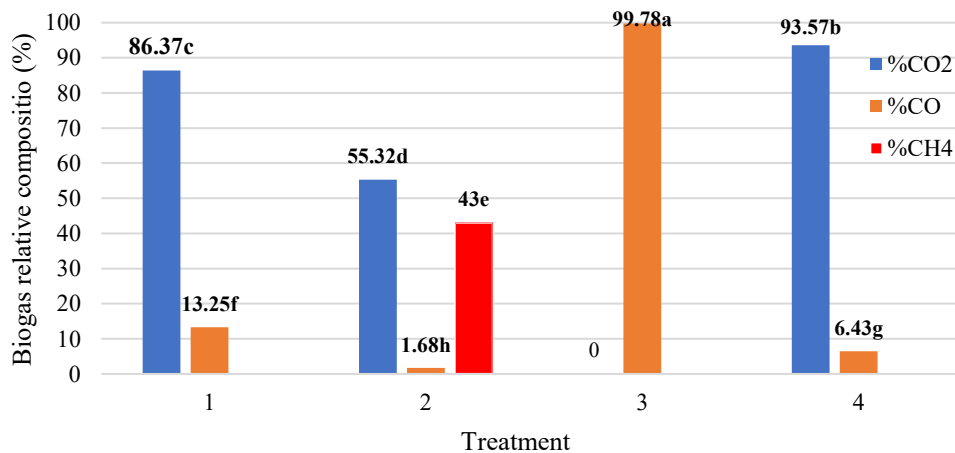
در جدول ۲ نتایج آنالیز عنصری خوراک و ماده هضم‌شده نشان داده شده است. طبق نتایج، بین تیمارهای مختلف از نظر تأثیر بر میزان کاهش کربن و هیدروژن پس از فرایند هضم اختلاف آماری معنی‌دار مشاهده شد ($p \leq 0.05$). در همین راستا بیش‌ترین میزان کاهش کربن (۱/۸۰ درصد) (مقایسه بین ماده هضم شده و خوراک) در تیمار T1 اندازه‌گیری شد. به‌طور کلی نسبت بهینه برخی از مواد مغذی مانند کربن، نیتروژن، اکسیژن و هیدروژن بر عملکرد هضم بی‌هوازی تأثیرگذار است (Abbasi and Keshtpour, 2021).

باکتری‌ها برای زنده‌ماندن و فعالیت‌های متابولیسمی، نیازمند کربن و نیتروژن هستند. این باکتری‌ها، کربن را به عنوان منبع انرژی و نیتروژن را برای ساختن دیواره سلولی خود مصرف می‌کنند. در کنترل فعالیت‌های شیمیایی درون هضم، نسبت این مواد بسیار مهم است. اگر نسبت این دو ماده زیاد شود، جذب نیتروژن توسط متانوژن‌ها برای برطرف کردن نیاز پروتئینی خود، افزایش می‌یابد و با محتوای کربنی واکنش نمی‌دهند در نتیجه، تولید گاز کاهش می‌یابد (Chandra et al., 2012; Taheri et al., 2020).

بیوگاز و به‌طور عمده متان دارد. قابل توجه این‌که گرانوباکتری‌ها باکتری‌های گرم منفی و بی‌هوازی اجباری هستند که عمدتاً در فرایند تخمیر اسیدها نقش دارند. این باکتری‌ها به دلیل توانایی در متابولیسم کردن ترکیبات آلی ساده (مانند اتانول و برخی اسیدها) و تبدیل آن‌ها به محصولات نهایی مانند استات و هیدروژن، نقش مهمی در مراحل میانی هضم بی‌هوازی ایفا می‌کنند. از آن‌جا که خروجی متابولیک گرانوباکتری (استات و هیدروژن) مستقیماً توسط متانوژن‌ها (باکتری‌های کاهنده اسید و هیدروژن) مصرف می‌شود، حضور این باکتری‌ها می‌تواند به طور غیرمستقیم بازدهی تولید بیوگاز را افزایش دهد (McInerney *et al.*, 2008).

با در نظر گرفتن نسبت حدودی یک به بیست گرانوباکتری اضافه شده به مخلوط و مقدار مساوی آب و پسماند آلی و بررسی تغییرات دما و pH، واضح است که در تیمار ۲ انجام مراحل فرایند هضم بی‌هوازی شامل هیدرولیز، اسیدزایی و متانزایی به تناوب و متعاقب همدیگر پیش رفته و در نهایت با آماده بودن شرایط محیطی برای فعالیت باکتری‌های متانزا، فرایند تولید متان به‌خوبی انجام شده است.

شدند که به تدریج طی ۱۰ روز نخست، دما به ۴۶/۳۰ افزایش و pH به ۵/۸۵ کاهش یافت. طی این ده روز، دو مرحله نخست فرایند هضم شامل هیدرولیز و اسیدزایی انجام شده است. چون فرایند اسیدزایی به شدت گرمازا است، لذا pH کاهش و دما افزایش یافت. به دلیل انتخاب صحیح و بهینه میزان گرانوباکتری نسبت به خوراک، مرحله سوم یعنی فرایند متانزایی در تناوب دو مرحله اول پس از ۱۰ روز شروع و به انجام رسید. بنابراین به دلیل مصرف اسیداستیک و هیدروژن‌های تولیدی به منظور تولید متان، از غلظت اسید کاسته شد و در نتیجه pH تا حدود ۷/۴۵ افزایش یافت. دما نیز در این زمان تا حدود ۳۷/۱ درجه سلسیوس (شرایط مزوفیلیک و نزدیک به دمای اولیه) کاهش نشان داد. مرحله سوم یعنی متانزایی نیز گرمازا است ولی علاوه بر کنترل دما توسط سیستم، نسبت مناسب خوراک و غلظت گرانوباکتری نیز سبب توازن بین باکتری‌های سه مرحله شده است. بنابراین علاوه بر این‌که گرانوباکتری نقش کاتالیزوری خود را ایفا نموده، باکتری‌های هر سه مرحله از فرایند هضم، به توالی عمل نموده لذا نتیجه آنالیز گازی، درصد متان بالاتری را نسبت به سایر تیمارها نشان داده است. البته کاهش میزان عناصر موجود در ماده به‌جای مانده از هضم نسبت به خوراک (آنالیز عنصری) نیز نشان از تبدیل بخشی از این عناصر به



شکل ۲ - ترکیب نسبی بیوگاز تولید شده
Fig 2. Relative composition of the biogas

جدول ۳ نشان داده شده است. طبق نتایج، تاثیر متقابل نوع تیمار و زمان بر تغییرات pH، دما و فشار طی دوره هضم بی‌هوازی معنی‌دار است ($p \leq 0.05$).

۳-۲- تغییرات pH، دما و فشار طی دوره هضم

بی‌هوازی

نتایج مقایسه میانگین داده‌های حاصل از تاثیر متقابل زمان و نوع تیمار، بر تغییرات pH، دما و فشار طی دوره هضم بی‌هوازی در

جدول ۳- مقایسه میانگین داده‌های حاصل از تأثیر تیمارهای مختلف بر تغییرات pH، دما و فشار طی دوره هضم بی‌هوازی

Table 3. Mean comparison of the effect of different treatments on changes in pH, temperature and pressure during anaerobic digestion

Day	pH				T(°C)				P(bar)			
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
0	7.34 ^{ab}	8.00 ^a	8.00 ^a	7.50 ^a	38.00 ^{dc}	38.00 ^{dc}	24.00 ^f	38.00 ^{dc}	-0.80 ^g	-0.80 ^g	-0.80 ^g	-0.80 ^g
10	5.00 ^d	5.85 ^{cd}	5.63 ^{cd}	5.48 ^d	46.80 ^{ab}	46.30 ^{ab}	37.30 ^e	41.60 ^c	0.40 ^a	0.15 ^e	0.25 ^{cd}	0.15 ^e
20	5.30 ^d	6.29 ^c	6.93 ^{bc}	5.53 ^d	45.40 ^{ab}	44.20 ^b	37.40 ^e	44.00 ^b	0.40 ^a	0.15 ^e	0.25 ^{cd}	0.15 ^e
30	5.67 ^{cd}	6.79 ^{bc}	7.51 ^{ab}	5.45 ^d	47.10 ^a	43.60 ^{bc}	37.60 ^e	44.70 ^b	0.15 ^e	0.15 ^e	0.25 ^{cd}	0.15 ^e
40	5.80 ^{cd}	7.26 ^{ab}	7.54 ^{ab}	5.19 ^d	47.10 ^a	40.70 ^{cd}	36.50 ^e	46.10 ^{ab}	0.30 ^{bc}	0.15 ^e	0.25 ^{cd}	0.15 ^e
50	6.29 ^c	7.45 ^{ab}	7.38 ^{ab}	5.10 ^d	47.80 ^a	37.10 ^c	47.00 ^a	39.30 ^{dc}	0.20 ^{de}	0.14 ^e	0.22 ^d	0.80 ^f

T= دما (°C)، P= فشار (bar)، حروف مختلف، تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها را نمایش می‌دهند ($P \leq 0.05$)

T= Temperature (°C); P= Pressure (bar); Different letters indicate significant difference between means at $p \leq 0.05$

در حدود ۴۸ درجه سلسیوس ثابت باقی ماند. در تیمار T2، دما از روز ۱۵ تا انتهای دوره از ۵۰ تا ۳۷ درجه سلسیوس کاهش نشان داد. اما در تیمار T3، دما از روز ۱۵ تا انتهای دوره حدود ۱۰ درجه سلسیوس افزایش یافت. قابل توجه این‌که در تیمار T4، نوسانات دمایی کمی طی دوره هضم بی‌هوازی مشاهده شد و دما پس از گذشت ۱۰ روز تا انتهای دوره در محدوده ۴۰ تا ۴۵ درجه سلسیوس باقی‌ماند. در تولید بیوگاز، دما برای انجام واکنش و همچنین، بر روی حل شدن فلزات سنگین و دی اکسید کربن و در نتیجه ترکیب گاز تأثیرگذار است. از سوی دیگر نوسانات دمایی می‌تواند رشد میکروبی و تولید بیوگاز را تحت تأثیر قرار دهد. البته دمای لازم برای انواع هضم بی‌هوازی متفاوت است (Taheri et al., 2020).

واکنش‌های غیر هوازی در دستگاه‌های بیوگاز در دمای ۱۰ تا ۶۰ درجه سلسیوس اتفاق می‌افتد. باکتری‌های فعال در حرارت ۳۰ تا ۴۰ درجه سلسیوس به مزوفیلیک و در ۴۵ تا ۶۰ درجه سلسیوس به ترموفیلیک شهرت دارند. هضم ترموفیلیک سرعت خروج گاز متان و تولید آن را بهبود می‌بخشد و زمان ملند کمتری نیاز دارد. این نوع هضم به دلیل دمای بالا موجب از بین رفتن پاتوژن‌ها شده و برای سیستم‌هایی با درصد جامدات بالا، نسبت به هضم مزوفیلیک بهتر عمل می‌کند. اما این نوع هضم دارای مشکلاتی هم هست که می‌توان به پایداری کمتر و حساسیت بیشتر نسبت به خوراک ورودی اشاره کرد (Gray et al., 2008).

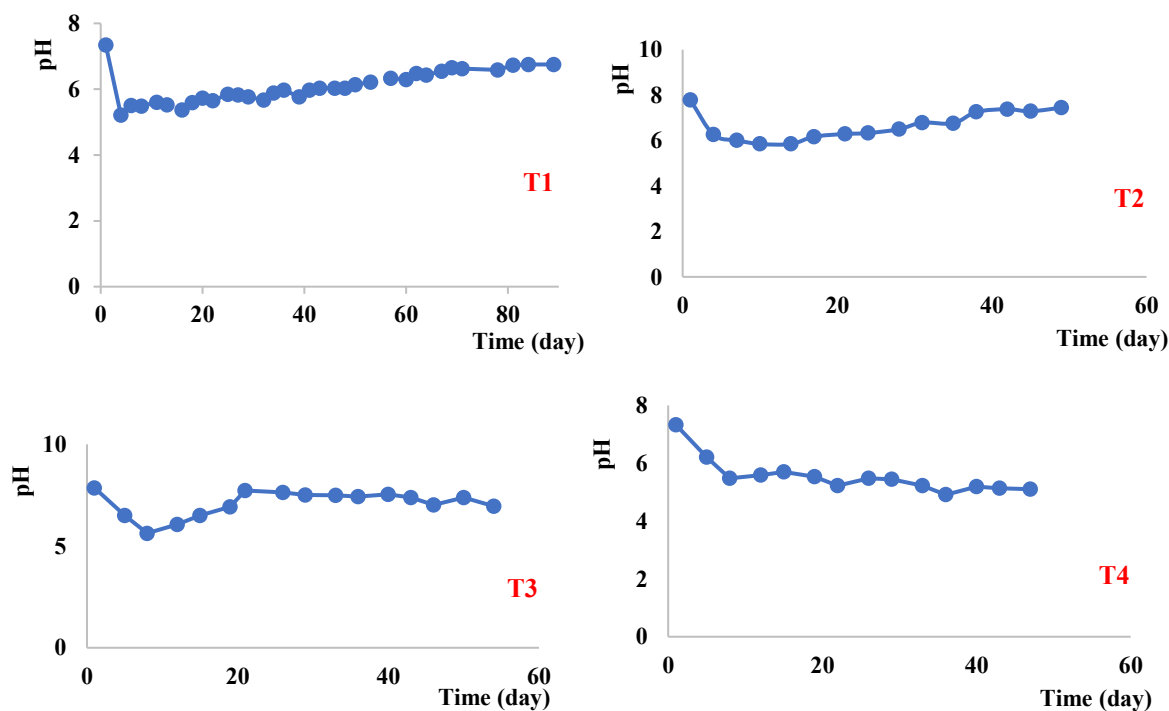
۳-۲-۱- pH

مطابق شکل ۳، مقدار pH در تیمار T1، بعد از ۹۰ روز به حدود ۶/۷۵ اما در تیمارهای T2، T3 و T4 به ترتیب پس از ۴۹، ۵۴ و ۴۷ روز به مقادیر ۷/۴۵، ۷/۱۰ و ۵/۱۰ رسید. باکتری‌های متانزا برای تولید بیوگاز به قلیابیت حدود ۶/۸۰ تا ۷/۲۰ نیاز دارند که خنثی است. نوسان در قلیابیت مشکلاتی در تولید بیوگاز و عمل تخمیر ایجاد می‌کند. قلیابیت پایین باعث اختلال در زندگی باکتری‌های متانزا می‌شود و اگر برای مدت زیادی بدون تغییر باقی بماند، باعث عدم فعالیت باکتری‌های متانزا و شکست هضم می‌شود (Cun-fang et al., 2008).

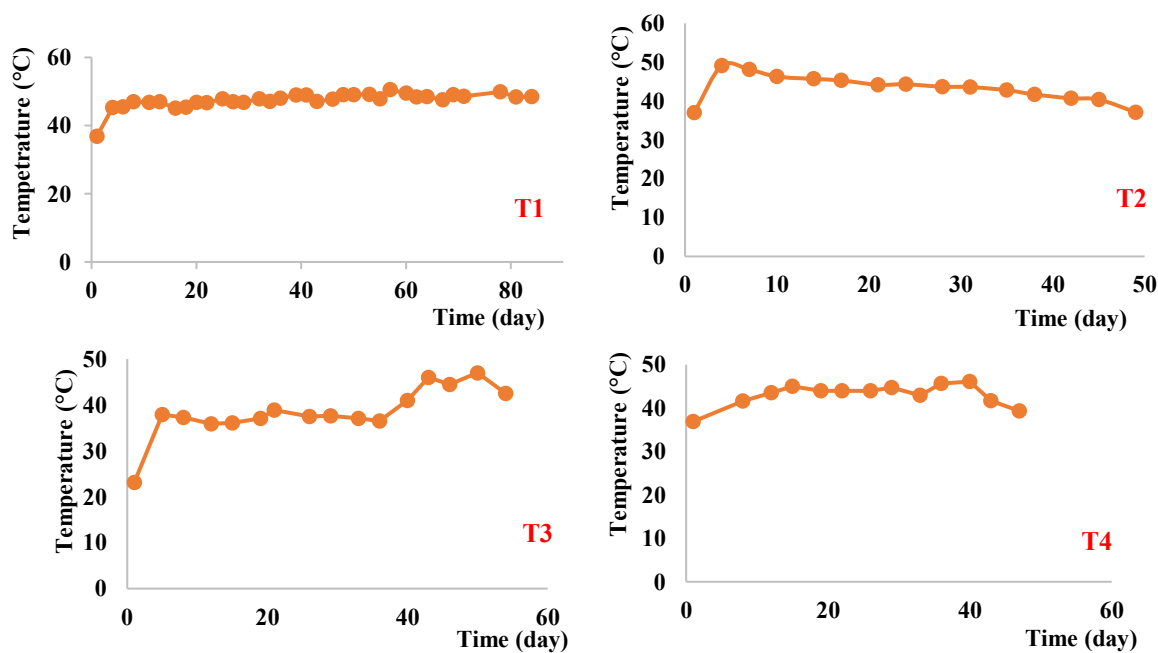
برای بهبود وضعیت، می‌توان با افزایش درجه حرارت یا اضافه کردن مواد قلیابی به سیستم کمک کرد. هنگامی که pH محیط قلیابی است و به حالت تعادل می‌رسد، می‌توان سوبستره را به سیستم اضافه کرد، با این حال باید در نظر داشت که مواد اسیدی به سیستم اضافه نشود. همان‌طور که مشاهده می‌شود در اولین مرحله تولید اسید در فرایند تخمیر، مقدار pH حدود ۶ یا کمتر بود اما پس از گذشت ۲ تا ۳ هفته، با هضم اسیدهای فرار، pH افزایش پیدا نمود.

۳-۲-۲- دما

مطابق شکل ۴، که تغییرات دما طی دوره هضم بی‌هوازی را نشان می‌دهد، تیمار T1 طی دوره هضم بی‌هوازی از نوسانات دمایی بسیار کمی برخوردار بود و بعد از گذشت ۱۰ روز، تا انتهای دوره، دما



شکل ۳- تغییرات pH طی دوره هضم بی هوازی
Fig 3. pH changes during anaerobic digestion



شکل ۴- تغییرات دما طی دوره هضم بی هوازی
Fig 4. Temperature changes during anaerobic digestion

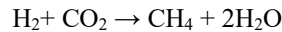
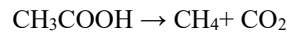
۳-۲- فشار

سیستم از طریق اتصال به یک پمپ خلاء عاری از هوا شد لذا فشار در شروع فرایند ۰/۸- بار بود. با شروع فرایند و انجام مراحل هیدرولیز و اسید زایی که گرماگیر هستند، در حضور میکروارگانیسم‌های

شکل ۵ تغییرات فشار طی دوره هضم بی‌هوازی را در تیمارهای مختلف نشان می‌دهد. در این تحقیق پس از بارگیری خوراک، کل

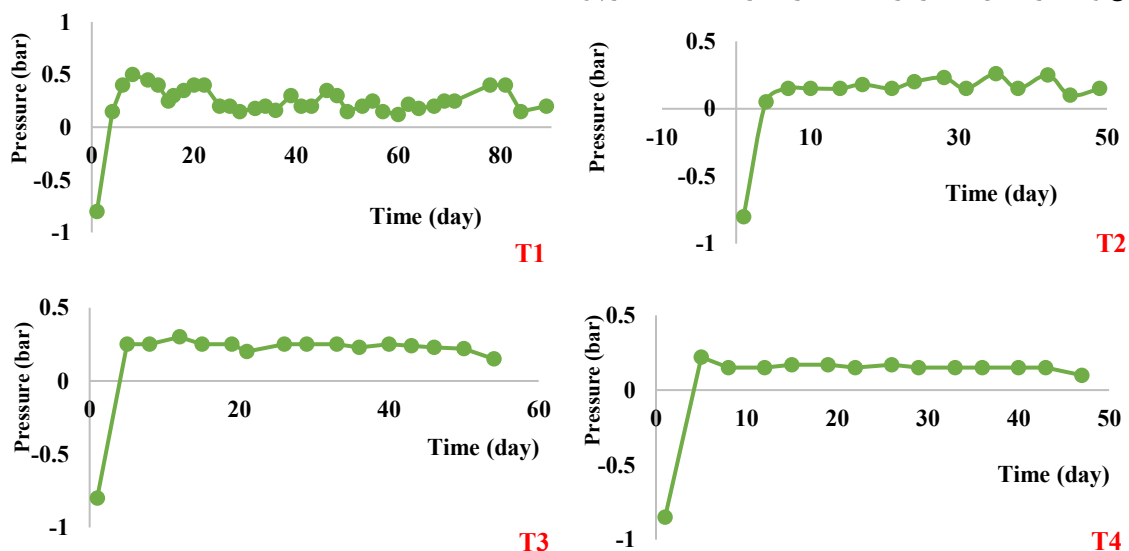
در مقابل برای فرایندهای گرمازا باید سرد شود. حال از آنجا که این سه مرحله، در یک راکتور انجام می‌شود، از طریق جریان و گردش آب سعی گردید دمای فرایند تنظیم و کنترل شود. پس افزایش دما همزمان با کاهش pH (اسیدی شدن محیط فرایند) همراه با افزایش فشار ناشی از تولید گازهای کربن دی اکسید و هیدروژن نشان از انجام فرایند تا پایان مرحله اسیدسازی است. در مقابل کنترل دما با نوسانات جزئی همراه با تنظیم pH در محدوده ۷-۸ در توازن با افزایش فشار گاز می‌تواند نویدی بر انجام مرحله متانزایی به توالی و تناوب مرحله اسید زایی و در نتیجه حصول بیوگاز با راندمان بالای متان باشد. در تیمار T1 طی دوره هضم بی‌هوازی، نوسانات زیادی در مقدار فشار مخزن هاضم در محدوده ۰/۱۲ تا ۰/۵۰ بار مشاهده گردید. اما در تیمار T2 از روز ۴ام تا انتهای دوره، فشار بین ۰/۱۵ تا ۰/۲۵ بار و در تیمار T3 تغییرات فشار در محدوده ۰/۲۰ تا ۰/۲۵ بار اندازه‌گیری شد. در همین راستا در تیمار T4، مقدار فشار در کل دوره هضم بی‌هوازی تقریباً ثابت و معادل ۰/۱۵ بار ثابت بود.

هیدرولیزکننده و اسیدزا، گرما مصرف می‌شود تا سه محصول عمده و نهایی، کربن دی اکسید(گازی)، هیدروژن(گازی) و اسید استیک(محلول) تولید شود. به توالی و در مرحله سوم (متانزایی) و در حضور میکروارگانیزم متانزا که مرحله‌ی گرمازا است، طی دو فرایند شیمیایی، متان تولید می‌گردد:



پس همان‌طور که ملاحظه می‌شود، از شروع فرایند تا مرحله اسیدزایی، افزایش فشار گاز مورد انتظار است و با شروع مرحله‌ی متانزایی، از آنجا که طبق روابط ترمودینامیکی و سینتیکی، فشار گاز متأثر از مول‌های تولیدی و مصرفی است، این میزان فشار تقریباً ثابت خواهد ماند اما کیفیت و اجزاء آن با تولید متان از اسید استیک، کربن دی اکسید(گازی) و هیدروژن(گازی) تغییر می‌نماید.

درباره دما هم مطابق قوانین ترموشیمیایی و ترموفیزیکی، برای تسریع و اخذ راندمان بالا در فرایندهای گرماگیر، محیط باید گرم و



شکل ۵- تغییرات فشار طی دوره هضم بی‌هوازی

Fig 5. Pressure changes during anaerobic digestion

۴- نتیجه‌گیری نهایی

هضم بی‌هوازی یک فرایند بیولوژیکی است که در آن تجزیه‌پذیری مواد آلی بدون حضور هوا و با مشارکت گونه‌های مختلف باکتری صورت می‌گیرد. در این راستا در این پژوهش فرایند هضم بی‌هوازی با مقادیر مختلف پسماندهای آلی شهری، آب و گرانوباکتری مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از گرانوباکتری به‌عنوان تلقیح‌کننده، می‌تواند در شرایط خاص باعث افزایش بهره‌وری فرایند هضم بی‌هوازی در مقیاس آزمایشگاهی گردد.

منابع

- Khalid, A., Arshad, M., Anjum, M., Mahmood, T., & Dawson, L. (2011). *The anaerobic digestion of solid organic waste*. Waste Management, 31(8), 1737-1744. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2011.03.021>
- Mehrdadi, N., Mohammadi, P., Karbasi, A., & Adl, M. (2004). *Fesibility and consideration of a bench -scale anaerobic digester for putrescible solid wastes*. Journal of Environmental Studies, 30(34), 15-19.
- McInerney, M. J., Struchtemeyer, C. G., Sieber, J., Mouttaki, H., Stams, A. J. M., Schink, B., Rohlin, L., & Gunsalus, R. P. (2008). *Physiology, ecology, phylogeny, and genomics of microorganisms capable of syntrophic metabolism*. Annals of the New York Academy of Sciences, 1125(1), 58-72. <https://doi.org/10.1196/annals.1419.005>
- Murillo-Roos, M., Uribe-Lorío, L., Fuentes-Schweizer, P., Vidaurre-Barahona, D., Brenes-Guillén, L., Jiménez, I., Arguedas, T., Liao, W., & Uribe, L. (2022). *Biogas production and microbial communities of mesophilic and thermophilic anaerobic co-digestion of animal manures and food wastes in Costa Rica*. Energies, 15(9), 3252. <https://doi.org/10.3390/en15093252>
- Nayono, S. E. (2014). *Anaerobic digestion of organic solid waste for energy production*. KIT Scientific Publishing. 152 P.
- Rongping, L., Shulin, C., & Xiujiu, L. (2010). *Biogas production from anaerobic co-digestion of food waste with dairy manure in a two-phase digestion system*. Applied Biochemistry and Biotechnology, 160, 643-654. <https://doi.org/10.1007/s12010-009-8533-z>
- Sugiarto, Y., Sunyoto, N. M. S., Zhu, M., Jones, I., & Zhang, D. (2021). *Effect of biochar addition on microbial community and methane production during anaerobic digestion of food wastes: The role of minerals in biochar*. Bioresource Technology, 323, 124585. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124585>
- Suryawanshi, P., Chaudhari, A. B., & Kothari, R. M. (2010). *Thermophilic anaerobic digestion: the best option for waste treatment*. Critical Reviews in Biotechnology, 30(1), 31-40. <https://doi.org/10.3109/07388550903330505>
- Taheri, M., Karimi, N., & Bigdeli, M. (2020). *Evaluating different aspects of biogas production in anaerobic digesters*. Human and Environment, 18(1), 1-20.
- Volpe, M., Goldfarb, J. L., & Fiori, L., (2018). *Hydrothermal carbonization of opuntia ficus-indica cladodes: Role of process parameters on hydrochar properties*. Bioresource Technology, 247, 310-318. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.072>
- Abbasi, M., & Keshtpour, S. (2021). *Investigating methods for improving the biogas quality from anaerobic digestion process*. Water and Wastewater Science and Technology, 6(3), 4-15. <https://doi.org/10.22112/jwwse.2021.262021.1237>
- Arifan, F., Abdullah, A., & Sumardiono, S. (2021). *Effect of organic waste addition into animal manure on biogas production using anaerobic digestion method*. International Journal of Renewable Energy Development, 10(3), 623-633. <https://doi.org/10.14710/ijred.2021.36107>
- Chandra, R., Takeuchi, H., & Hasegawa, T. (2012). *Methane production from lignocellulosic agricultural crop wastes: A review in context to second generation of biofuel production*. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 16(3), 1462-1476. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2011.11.035>
- Chen, R., Roos, M. M., Zhong, Y., Marsh, T., Roman, M. B., Ascencio, W. H., Uribe, L., Lorio, L. U., Kirk, D., Reinhold, D. M., Chavarria, J. A. M., Ruiz, D. B., Pereira, J. F. A., Montero, W. R., Srivastava, A., & Liao, W. (2016). *Responses of anaerobic microorganisms to different culture conditions and corresponding effects on biogas production and solid digestate quality*. Biomass and Bioenergy, 85, 84-93. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2015.11.028>
- Cun-fang, L., Xing-zhong, Y., Guang-ming, Z., Wen-wei, L., & Jing, L. (2008). *Prediction of methane yield at optimum pH for anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste*. Bioresource Technology, 99(4), 882-888. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.01.013>
- Gao, M., Zhang, S., Ma, X., Guan, W., Song, N., Wang, Q., & Wu, C. (2020). *Effect of yeast addition on the biogas production performance of a food waste anaerobic digestion system*. Royal Society Open Science, 7(8), 200443. <https://doi.org/10.1098/rsos.200443>
- Gray, D. M. D., Suto, P., & Peck, C. (2008). *Anaerobic digestion of food waste*. East Bay Municipal Utility District.
- Kabaivanova, L., Petrova, P., Hubenov, V., & Simeonov, I. (2022). *Biogas production potential of thermophilic anaerobic biodegradation of organic waste by a microbial consortium identified with metagenomics*. Life, 12(5), 1-16. <https://doi.org/10.3390/life12050702>

- Wellinger, A., Murphy, J. D., & Baxter, D. (2013). *The Biogas Handbook: science, production and applications*. Amsterdam: Elsevier. <https://doi.org/10.1533/9780857097415>
- Yono, B., Primaloka, A. D., Ardhanari, L., Matin, H. H. A., & Sumardion, S. (2018). *Study of biogas production from cassava industrial waste by anaerobic process*. MATEC Web of Conferences. 156, 03052. <https://doi.org/10.1051/mateconf/201815603052>
- Yousefi, L. (2019). *Effect of mixing digested with municipal solid organic waste in biogas production through anaerobic digestion bath system under mesophilic conditions*. Green Chemistry and Sustainable Technologies, 2(1), 61-69.
- Yousefi, L., & Bahri, A. (2021). *Laboratory investigation of cow manure and digested synergistic with municipal organic solid waste in anaerobic digestion process for efficiency increasing*. Journal of Environmental Science and Technology, 23(4), 259-270. <https://doi.org/10.30495/jest.2021.55097.5150>
- Zaeni, A., Susilowati, P. E., Rasmin, H., & Rasmin, N. (2019). *Anaerobic digestion of solid and liquid organic waste with microorganism from manure*. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 299, The 5th International Seminar on Sciences 25 October 2019, Bogor, Indonesia. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/299/1/012063>
- Zamiraei, Z., Baghipour, S., & Rakhshaei, R. (2013). *Investigation of new anaerobic digestion processes for energy recovery from various food wastes*. Iranian Chemical Engineering Journal, 12(67), 57-66. <https://doi.org/20.1001.1.17355400.1392.12.67.7.8>